

Faculté des Sciences et Techniques de Saint Jérôme  
Université d' Aix - Marseille III

**Gilles OLIVE**

Diplôme d'Etudes Approfondies  
"Synthèse et Modélisation de Molécules Bioactives"

**RECHERCHE ET SYNTHÈSE D'UN PIÈGE  
A RADICAUX LIBRES D'INTERET BIOLOGIQUE:  
Le (5-méthyl-1-oxyde- $\Delta$ -1-pyrrolin-5-yl) méthyl  
phosphonate diéthylique**

Stage effectué au laboratoire

STRUCTURE ET REACTIVITE DES ESPECES PARAMAGNETIQUES  
Directeur: Professeur P. TORDO

Maîtres de stage: Dr A. MERCIER  
Dr F. Le MOIGNE

Février-Juin 1994

A mes parents.  
A Béatrix.

La quête scientifique a cela de remarquable qu'elle  
pousse sans cesse l'homme à se dépasser.  
(Blaise Pascal)

*Je remercie Monsieur le Professeur P. Tordo pour m'avoir accueilli dans son laboratoire.*

*Je remercie mon maître de stage, le Dr. A. Mercier, qui m'a patiemment guidé et conseillé tout au long de mon stage.*

*Je remercie également le Dr. F. Le Moigne pour ses conseils.*

*Je remercie tout particulièrement M<sup>me</sup> O. Santero pour l'aide apportée.*

*Enfin, je ne saurais oublier dans mes remerciements, l'équipe du S.R.E.P. pour la sympathie et la gentillesse qu'elle m'a témoignées durant cette année.*



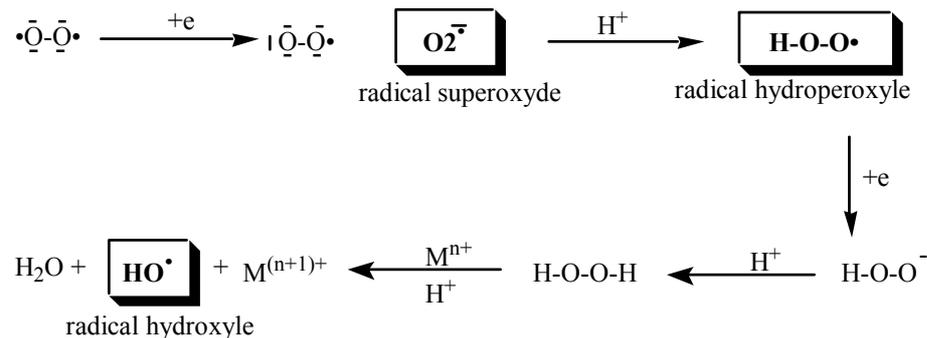


III.2.1 - Addition du magnésien du du 3-bromo-2-méthyl propène sur l'oxyde d'éthylène.	15
III.2.2 - Par action d'un réactif de Wittig sur le 3-acétylpropanol.	16
<b>III.3 - Synthèse de la 4-méthylpent-4-én-1-amine (2)</b>	16
<b>III.4 - Protection du 4-méthylpent-4-én-1-amine (2)</b>	17
<b>III.5 - Synthèse de la N-(2-iodométhyl-2-méthyl tétraméthylène) carbamate de benzyle (4)</b>	17
<b>III.6 - Réaction d'Arbuzov</b>	18
<b>IV - CONCLUSION et PERSPECTIVES</b>	18
<b>V - BIBLIOGRAPHIE</b>	21
<b>VI - PARTIE EXPÉRIMENTALE</b>	23
<b>ANNEXES</b>	26

## I - INTRODUCTION

### I.1 - Les radicaux oxygénés et le "Stress oxydatif"

Bien que l'oxygène moléculaire puisse être considéré comme un biradical, compte tenu de la règle de conservation du spin total au cours d'une réaction, sa réactivité est faible. Cependant, aussi bien *in vitro* que *in vivo* l'oxygène peut être facilement réduit et plusieurs espèces très réactives peuvent se former au cours de ce processus de réduction:



Les radicaux superoxyde, hydroxyle, et hydroperoxyde sont des oxydants très réactifs et depuis une vingtaine d'années, un très grand nombre de travaux de recherche ont été consacrés à l'étude du rôle qu'ils peuvent jouer dans diverses pathologies et dans le vieillissement cellulaire.

Il est clair toutefois que divers processus radicalaires impliquant ces radicaux oxygénés, sont des processus cellulaires normaux. Divers enzymes et autre facteurs endogènes dont la fonction est de contrôler cette biochimie radicalaire sont certainement apparus très tôt dans l'évolution. L'organisme est donc équipé d'un système complexe, assurant l'équilibre entre un ensemble d'espèces oxydantes et un ensemble d'espèces antioxydantes. Ces espèces ont des fonctions bien précises et sont localisées dans des sites cellulaires spécifiques. Toute perturbation de ce délicat équilibre pourra entraîner des troubles et cette situation de déséquilibre est désignée sous le nom de "STRESS OXYDATIF".

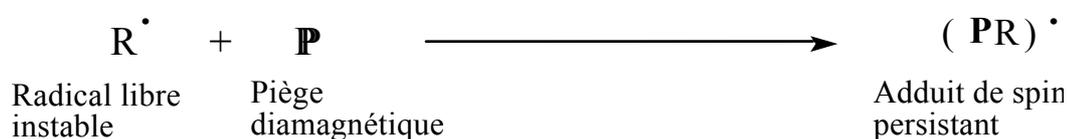
Par exemple une situation d'ischémie (ralentissement du flux sanguin) dans le myocarde, s'accompagne d'une perte progressive de la viabilité des cellules cardiaques. Dans une telle situation il est primordial de rétablir le plus rapidement possible un flux sanguin normal. Paradoxalement on a constaté que cette reperfusion peut déclencher un grand nombre de troubles fonctionnels et métaboliques (arythmies, infarctus). Divers travaux récents semblent démontrer que la reperfusion du tissu en situation d'ischémie entraîne une production incontrôlée de radicaux  $O_2^{\cdot-}$ ,  $HO\cdot$  et  $HOO\cdot$ , et ces radicaux joueraient un rôle clé dans la pathophysiologie de l'ischémie/reperfusion myocardique. Le même type de

problèmes se rencontre dans la chirurgie cardiovasculaire avec circulation sanguine extracorporelle ou dans la conservation des transplants.

## I.2 - Capture des radicaux $O_2^{\cdot-}$ , $HO^{\cdot}$ et $HOO^{\cdot}$

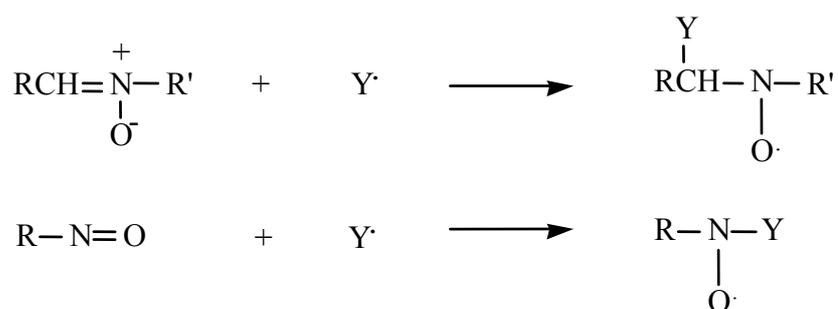
La détection et la caractérisation des radicaux  $O_2^{\cdot-}$ ,  $HO^{\cdot}$  et  $HOO^{\cdot}$  sont fondamentales pour l'étude des phénomènes biologiques liés à une situation de stress oxydatif. La Résonance Paramagnétique Electronique apparaît comme la technique de choix pour de telles études, toutefois la très courte durée de vie des radicaux mis en jeu (de  $10^{-3}$  à  $10^{-5}$  s) rend leur détection directe impossible.

La capture de spin (spin trapping) <sup>1</sup> est une technique très utilisée dans les études par RPE de radicaux à très courte durée de vie. Son principe est résumé sur le schéma suivant:



La détection par RPE de l'adduit  $(PR)^{\cdot}$  est facile et l'analyse de son spectre RPE, permet d'obtenir des informations sur le radical piégé  $R^{\cdot}$ .

Les t-alkylnitroso, les arylnitroso et les nitrones constituent les principales familles de pièges utilisés pour le spin trapping:

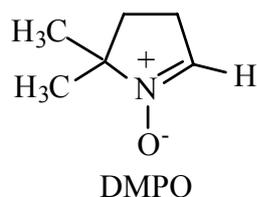


Radicaux nitroxydes

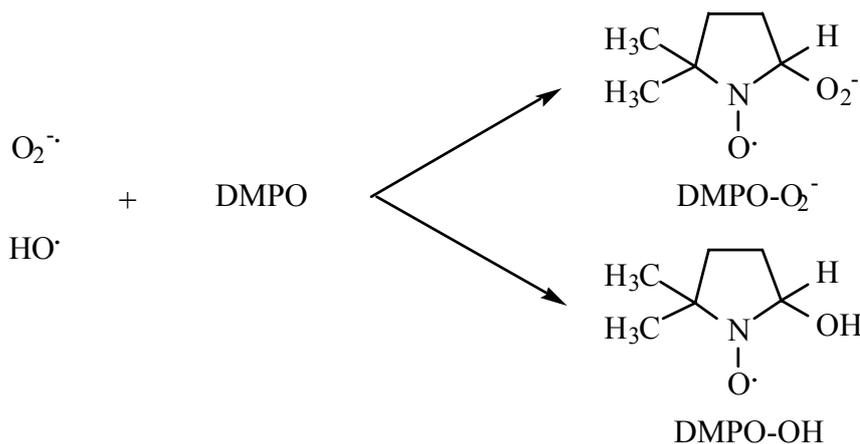
Les adduits obtenus sont des nitroxydes, en général assez persistants pour permettre leur caractérisation par RPE.

Depuis quelques années, la technique du spin trapping est fréquemment utilisée pour étudier les processus radicalaires dans les milieux biologiques.

La 5,5-diméthyl-1-pyrroline N-oxyde (DMPO) est certainement le piège le plus utilisé dans les milieux biologiques:



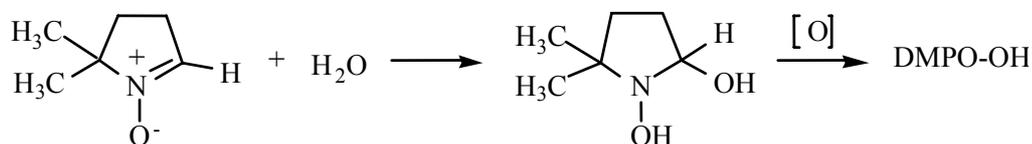
La capture par cette nitronne des radicaux  $O_2^{\cdot-}$  et  $HO^{\cdot}$ , conduit aux adduits DMPO- $O_2^{\cdot-}$  et DMPO-OH:



Les spectres des adduits sont présentés dans l'annexe {1}.

Bien qu'étant le piège le plus performant dans les milieux biologiques, la DMPO présente certains inconvénients qui limitent ses performances:

-la réaction de la DMPO avec des nucléophiles, suivie de l'oxydation à l'air de l'anion ou de l'hydroxylamine formés peut conduire à des nitroxydes. En particulier l'attaque de l'eau catalysée par les ions ferriques conduit à l'adduit DMPO-OH :

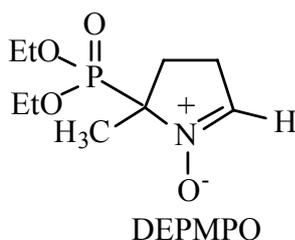


-la cinétique de capture du radical superoxyde  $O_2^{\cdot-}$  est lente ( $10 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ) et la durée de vie de l'adduit est faible. Ceci rend la détection de DMPO- $O_2^{\cdot-}$  difficile dans les milieux biologiques.

-la décomposition de l'adduit DMPO- $O_2^{\cdot-}$  fournit l'adduit DMPO-OH, ce qui peut entraîner une interprétation erronée des expériences de capture.

-la DMPO est peu lipophile et se fixe principalement dans le domaine extracellulaire.

La recherche de nouvelles nitrones plus performantes que la DMPO dans les milieux biologiques a été entreprise par plusieurs équipes dans le monde. Le laboratoire SREP a mis au point récemment la synthèse d'une nouvelle nitrone la 5-diéthoxyphosphoryl-5-méthyl-1-pyrroline-1-oxyde, DEPMPO,

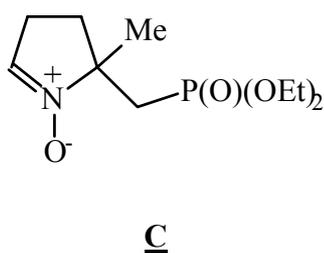


qui s'est avérée sous certains aspects plus performante que la DMPO.

Les spectres des adduits de  $O_2^{\cdot-}(H)$  et  $HO^{\cdot}$  sur la DEPMPO sont présentés dans l'annexe {2}

### I.3 - Objectifs du travail

Dans le cadre de cette recherche de nouvelles nitrones performantes pour le piégeage des radicaux libres dans les milieux biologiques, mon travail durant ce stage de DEA a eu pour objectif la synthèse du (5-méthyl-1-oxyde- $\Delta$ -1-pyrroline-5-yl) méthyl phosphonate diéthylique, C:



et l'étude préliminaire par RPE de quelques réactions de capture de radicaux libres par cette nitrone.

La molécule cible C est un oxyde de pyrroline phosphorylé, qui diffère de la DEPMPO par l'introduction d'un méthylène entre le groupement diéthoxyphosphoryle et le cycle pyrrolinique.

L'objectif est d'étudier l'évolution des propriétés de piégeage de la nitronne lorsque le groupement phosphoryle est, par rapport à la DEPMPO, éloigné du site de piégeage.

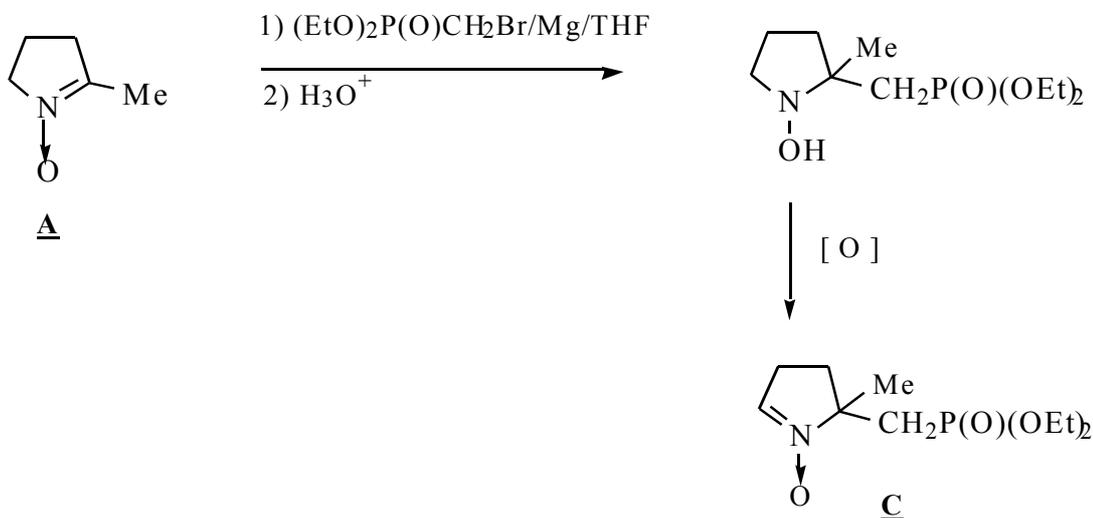
Notre but est donc de réaliser une première synthèse de **C** et d'effectuer des études RPE préliminaires de piégeage de radicaux libres.

Si les performances de cette nitronne s'avèrent intéressantes, il faudra alors envisager d'optimiser sa synthèse et sa purification. L'analyse de ces performances permettra peut-être de préciser le rôle du groupe phosphoryle dans ces réactions de piégeage, en particulier pour les piégeages *in vivo*.

## II - SYNTHÈSE DU (5-MÉTHYL-1-OXYDE-Δ-1-PYRROLIN-5-YL) MÉTHYL PHOSPHONATE DIÉTHYLIQUE

Deux principales voies d'accès au (5-méthyl-1-oxyde-Δ-1-pyrrolin-5-yl) méthyl phosphonate diéthylique **C** sont envisageables, soit directement à partir d'une pyrroline N-oxyde, la 2-méthyl-1-pyrroline N-oxyde, soit *via* une pyrrolidine, le (2-méthyl pyrrolidin-2-yl) méthyl phosphonate diéthylique.

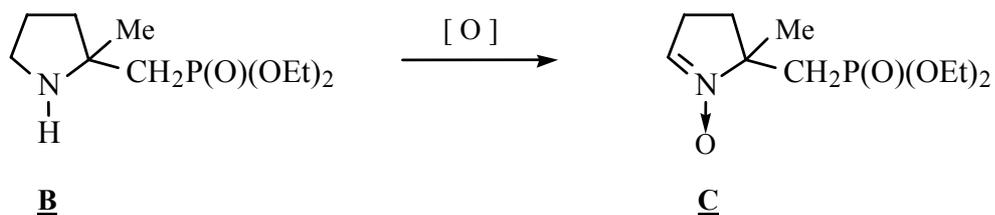
- A partir de la 2-méthyl-1-pyrroline N-oxyde **A**, par addition du magnésien du bromométhylphosphonate diéthylique, suivie d'oxydation:



La synthèse de la pyrroline N-oxyde **A**, non commerciale, est décrite dans la littérature<sup>2</sup>.

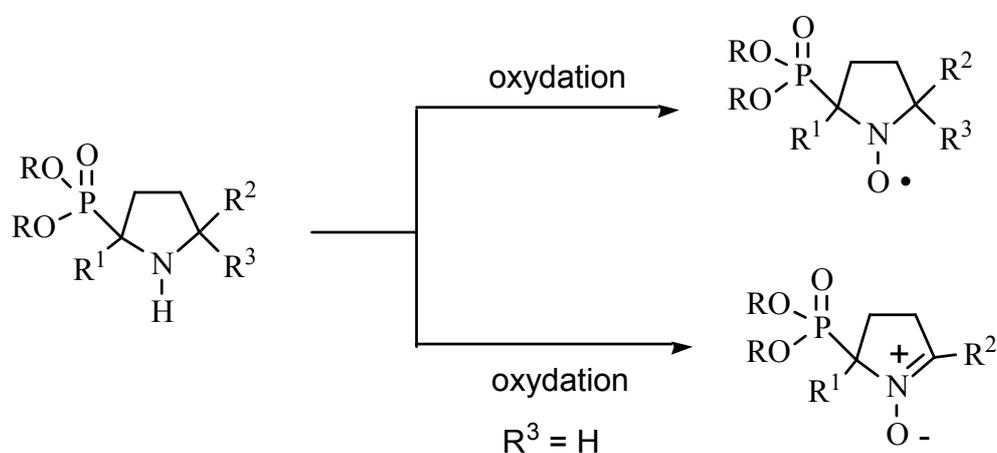
Des essais préliminaires, selon ce schéma de synthèse, ont été conduits au laboratoire. Cependant, les produits formés lors de l'addition du réactif de Grignard n'ont pas pu être isolés et identifiés.

- via le (2-méthylpyrrolidin-2-yl)méthylphosphonate diéthylique **B**:



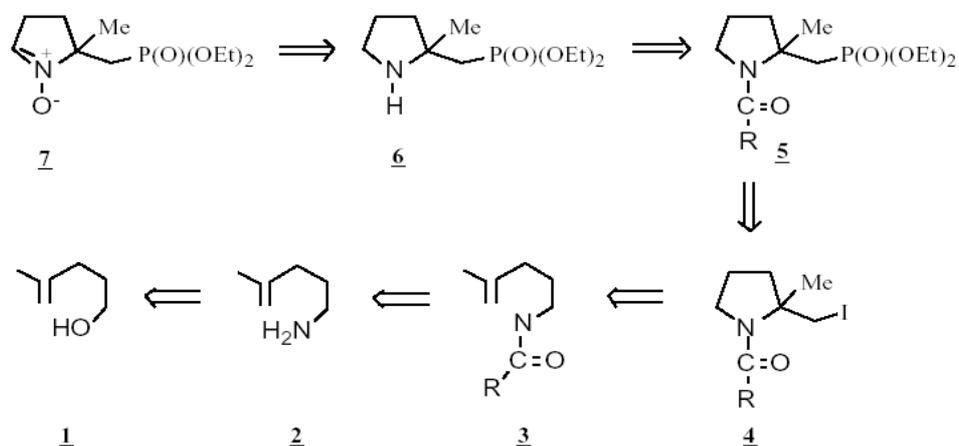
L'oxydation des amines secondaires en nitroxydes ou en nitrones est bien décrite dans la littérature<sup>3, 4, 5</sup>.

Au laboratoire, cette voie de synthèse a déjà permis de préparer de nombreux nitroxydes et nitrones phosphorylés:



En fonction des résultats préliminaires déjà obtenus, nous avons donc retenu l'alternative passant par la pyrrolidine phosphorylée **B**.

Le schéma rétrosynthétique proposé est le suivant:

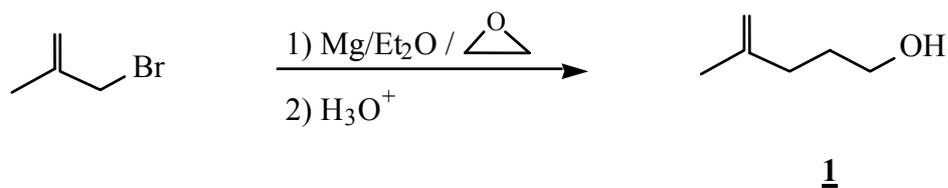


## II.1 - Etude bibliographique

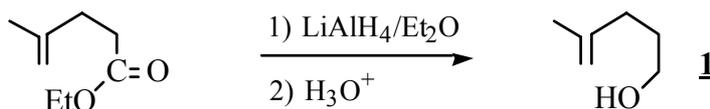
### II.1.1 - 4-méthyl pent-4-én-1-ol (1)

Dans la littérature, trois voies de synthèse principales sont décrites:

II.1.1.1 - Par addition du magnésien du 3-bromo-2-méthyl propène sur l'oxyde d'éthylène <sup>6</sup>.

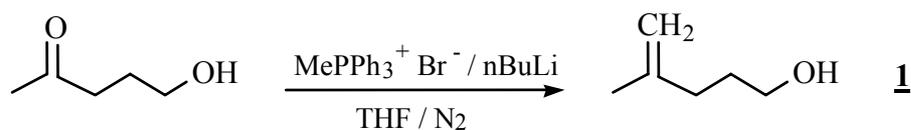


II.1.1.2 - Par réduction du 4-méthylpent-4-énoate d'éthyle.



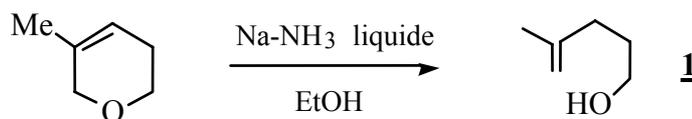
Cependant, le précurseur utilisé dans ce cas présente un coût élevé, difficilement acceptable à ce stade du schéma de synthèse <sup>7,8</sup>.

II.1.1.3 - *Via* l'action d'un réactif de Wittig sur le 3-acétylpropanol <sup>9</sup>.



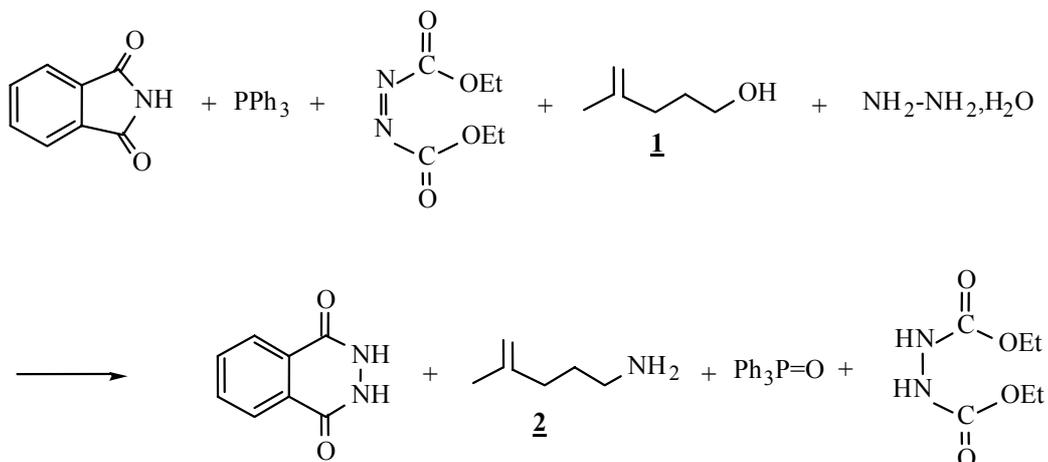
II.1.1.4 - Par réduction de l'hydropyranne.

Zhou <sup>7</sup> propose la réaction suivante:

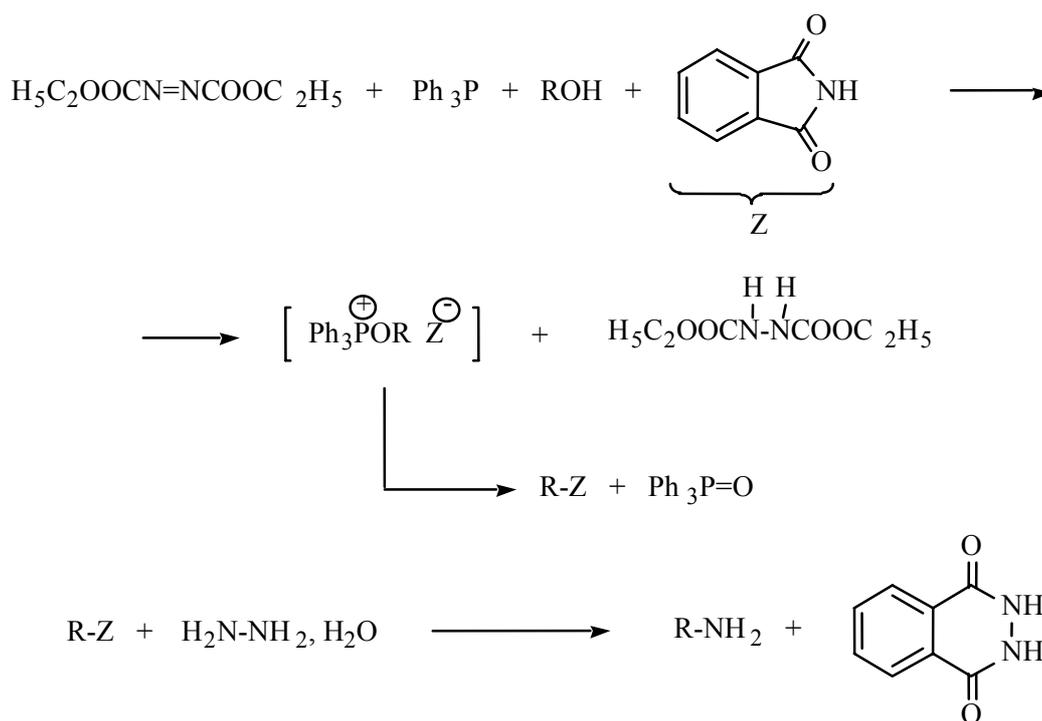


### II.1.2 - 4-méthylpent-4-én-1-amine (**2**)

Anastasiou reporte la synthèse de **2** dans les conditions d'Hégédus <sup>10</sup> qui utilise une modification de la procédure de Mitsunobu.



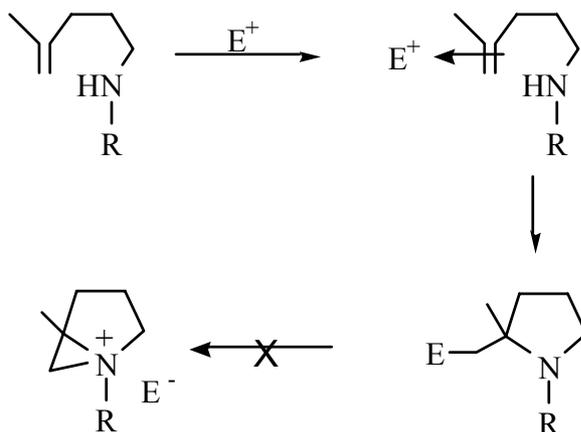
La formation de **2** dans ces conditions, peut s'expliquer de la manière suivante <sup>11</sup>:



### II.1.3 - Protection de la fonction amine

De très nombreuses protections de la fonction amine ont été reportées dans la littérature <sup>12</sup>.

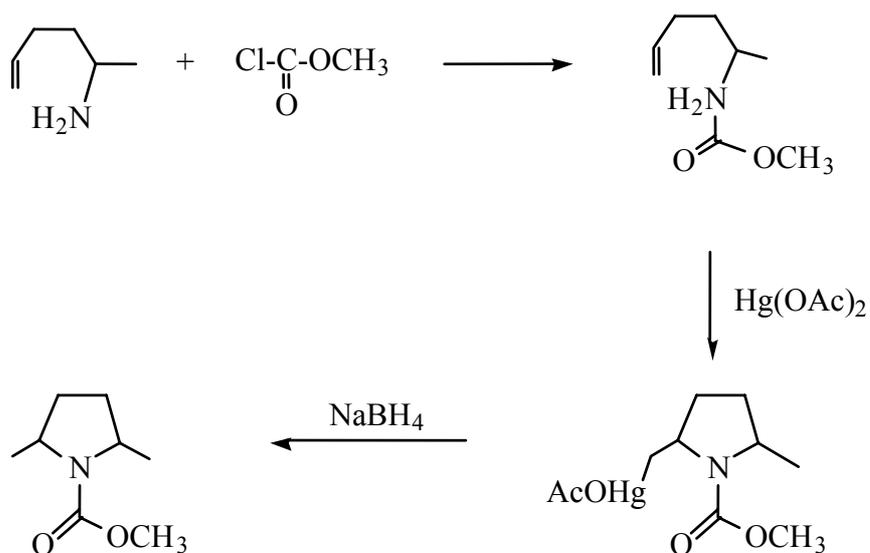
Nous nous limiterons ici aux principales protections compatibles avec notre schéma de synthèse; en effet, dans notre cas le groupement protecteur de l'amine doit être choisi de façon à permettre la cyclisation sur la double liaison, mais prévenir l'attaque nucléophile de l'azote sur le carbone électrophile formé au cours de cette étape. Par ailleurs, l'amine protégée ne doit pas réagir lors de l'étape de phosphorylation et sa déprotection doit respecter la fonction phosphonate introduite.



### II.1.3.1 - Protection sous forme de carbamate

#### II.1.3.1.1 - Sous forme de carbamate de méthyle

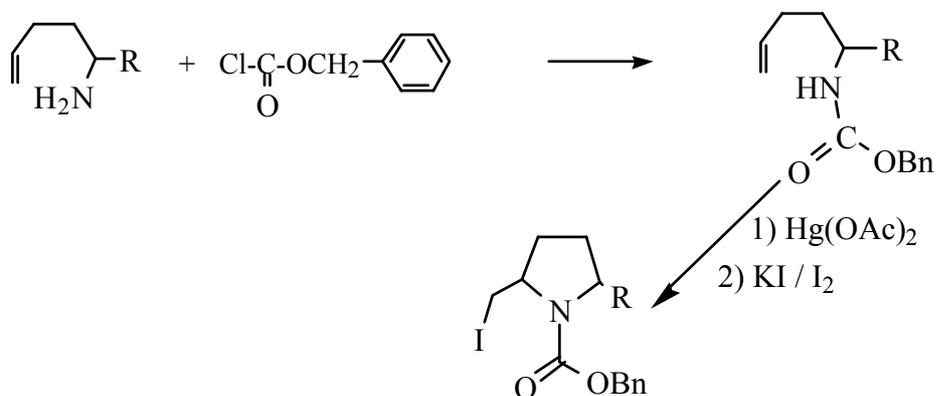
Harding <sup>13</sup> décrit de nombreuses cyclisations de  $\delta$ -alcényl carbamates, notamment de carbamates de méthyle.



La déprotection s'effectue soit en milieu acide <sup>13</sup> ( $HCl$ ,  $AcOH$ ), soit en milieu basique ( $10\% KOH$ ,  $MeOH/H_2O$ ) <sup>12, 14</sup>.

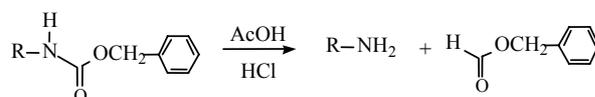
### II.1.3.1.2 - sous forme de carbamate de benzyle

Les carbamates de benzyle sont fréquemment utilisés dans les réactions de cyclisation des  $\delta$ -alcényl amines <sup>13, 15</sup>.

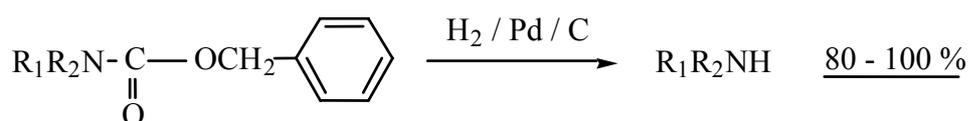


Différents modes de déprotection sont décrits dont:

- déprotection en milieu acide

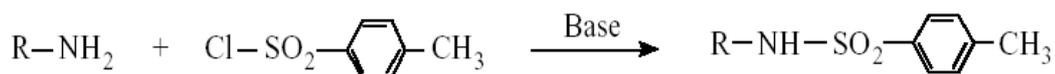


- déprotection par hydrogénation catalytique <sup>12</sup>



### II.1.3.2 - Protection sous forme de tosylate <sup>12</sup>

La réaction est analogue à celle décrite au § II.1.3.1.1:

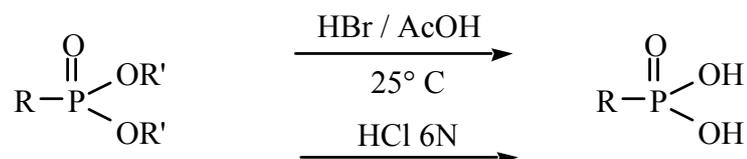


De nombreuses méthodes de déprotection sont décrites, notamment en milieu acide ( $\text{HBr}$ ,  $\text{AcOH}$ ,  $70\text{ }^\circ\text{C}$ ) <sup>16</sup>.

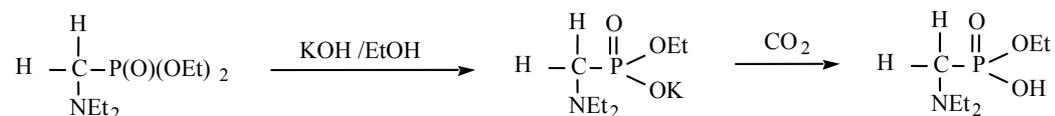
## II.1.4 - Déalkylation des fonctions ester de groupement phosphonates

Les fonctions ester des groupements phosphonates peuvent être déalkylées en milieu acide ou basique (monodéalkylation).

• *en milieu acide*, deux types de conditions sont généralement utilisés<sup>17, 18</sup>:



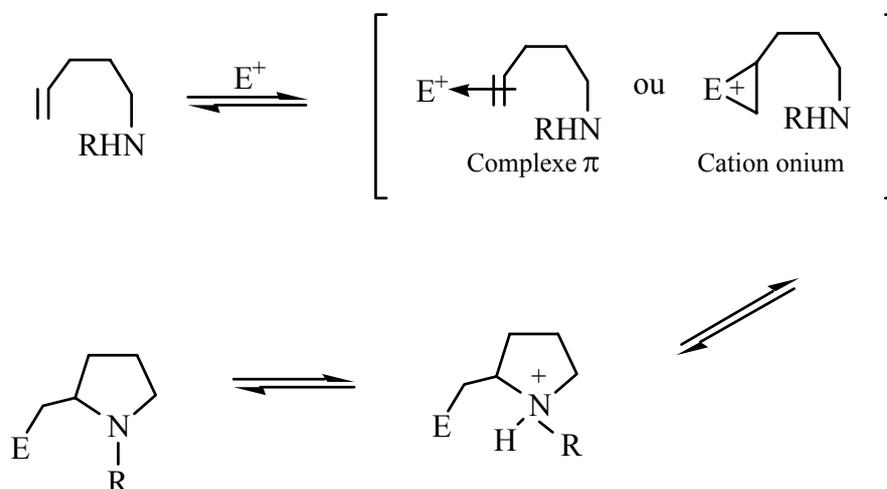
• *en milieu basique*, l'hydrolyse des phosphonates conduit à l'obtention de monoacides<sup>19</sup>:



## II.1.5 - Cyclisation des $\delta$ -alcénylamine

L'activation par un agent électrophile de la double liaison des alcénylamine permet d'effectuer des réactions de cyclisation de ces composés.

Dans le cas des  $\delta$ -alcénylamine, on observe préférentiellement la formation de pyrrolidines, résultant de la cyclisation 5-exo.



On peut distinguer ces réactions en fonction de l'électrophile employé: ions haloniums, ions sélénéniums, cations métalliques ( $\text{Hg}^+$ ), métaux de transition <sup>20</sup>, <sup>21</sup>.

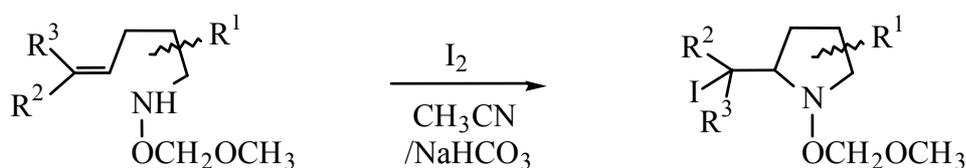
Deux méthodes sont particulièrement intéressantes dans notre cas, car elles permettent d'introduire simultanément la fonction halogénure sur le méthylène en  $\alpha$  du cycle pyrrolidinique.

### II.1.5.1 - Cyclisation induite par des ions halonium

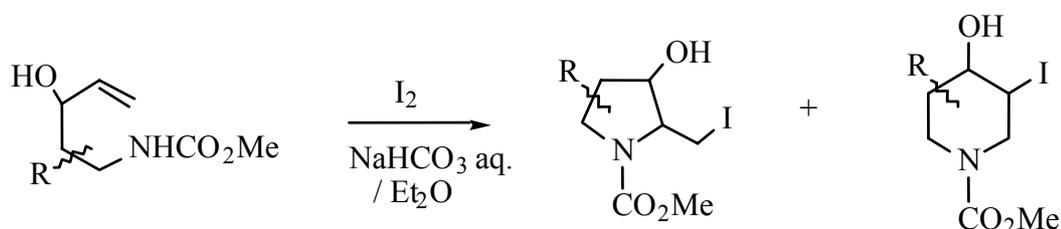
L'halogène le plus fréquemment utilisé pour la cyclisation d'amines ou amides éthyléniques en hétérocycles azotés est l'iode <sup>21</sup>, <sup>22</sup>, <sup>23</sup>, <sup>24</sup>.

Différentes protections de l'amine sont utilisables:

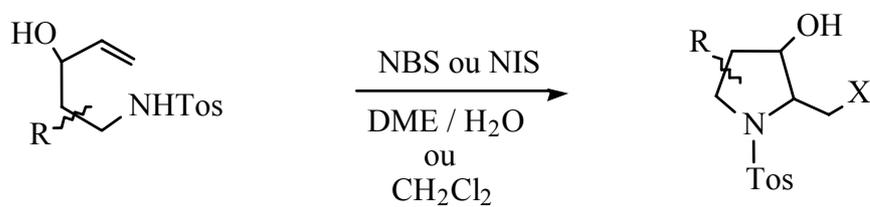
- N-alkoxyamines <sup>22</sup>



- Carbamates <sup>24</sup>



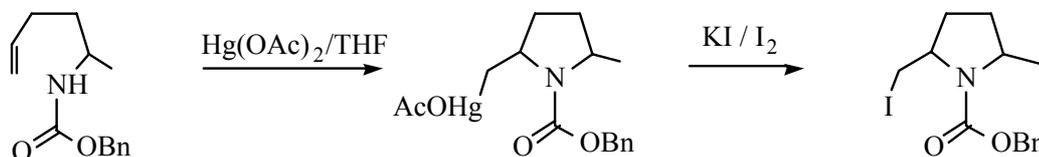
- Tosylates <sup>24</sup>



X = Br ou I

## II.1.5.2 - Cyclisation induite par les ions mercurinium : amidomercuration

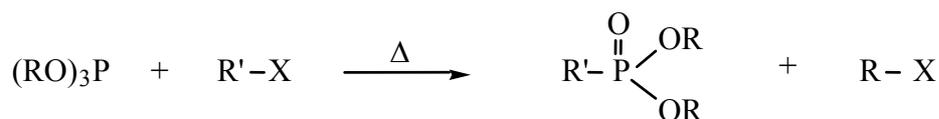
Harding<sup>15, 13</sup> décrit la cyclisation par amidomercuration de  $\delta$ -alcénylamines:



## II.1.6 - Création d'une liaison carbone-phosphore à partir d'un halogénure

### II.1.6.1 - Réaction d'Arbuzov

La réaction de Michaelis-Arbuzov est une voie générale très largement décrite, permettant la création de liaison carbone-phosphore par action d'un ester de phosphore trivalent sur un halogénure d'alkyle ou d'alcyle<sup>25</sup>.

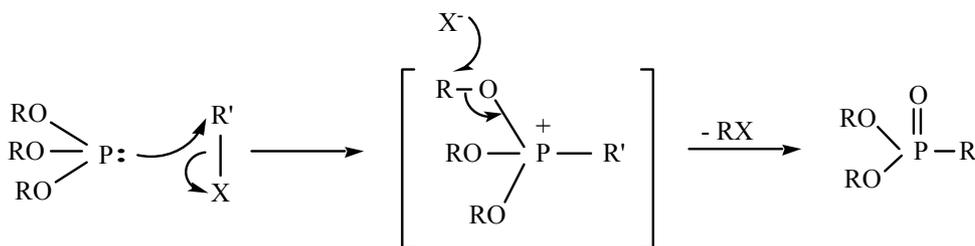


R = Alkyl, aryl ...

R' = Alkyl, acyl ..

X = Cl, Br, I

Le mécanisme généralement admis est le suivant:



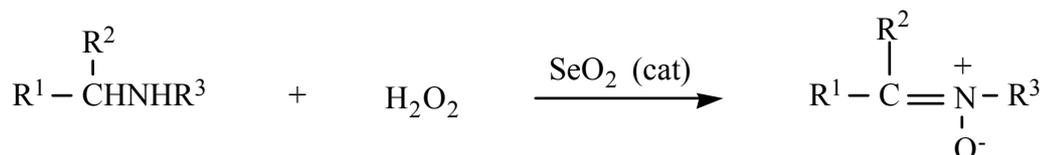
### II.1.6.2 - Réaction de Michaelis-Becker

A partir d'un halogénure, on peut également introduire un groupement phosphonate par action d'un sel métallique de dialkylphosphonate<sup>26</sup>.



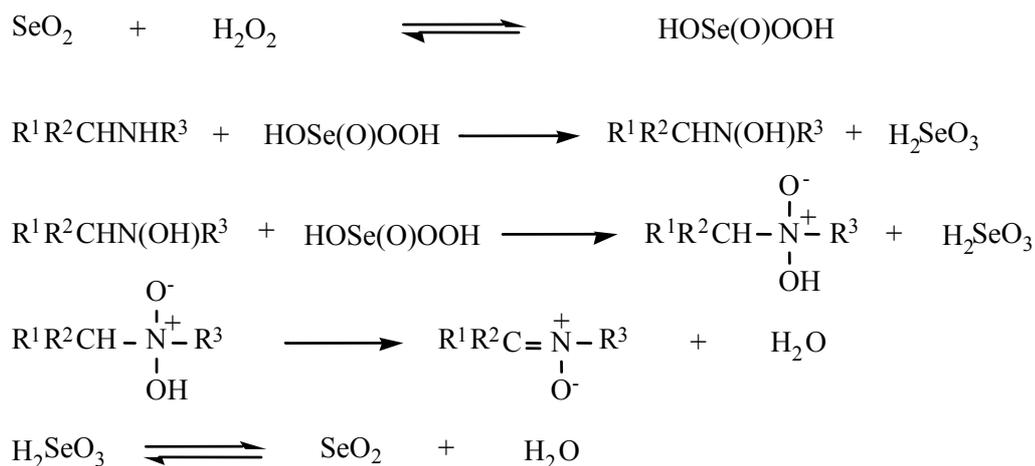
### II.1.7 - Oxydation

Shun-Ichi Murahashi et Tatsuky Shiota effectuent l'oxydation suivante<sup>3</sup>:



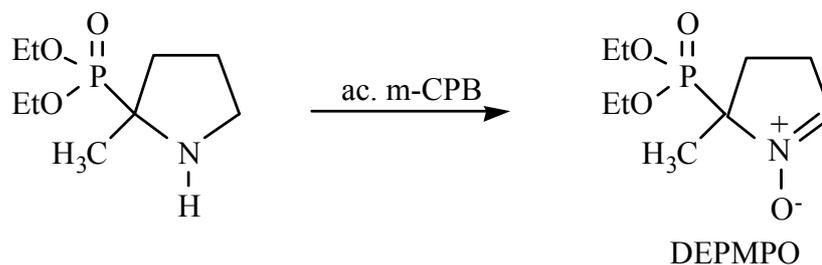
La réaction s'effectue dans l'acétone et en partant de la pyrrolidine le rendement en nitronne est de 73%.

Ces auteurs proposent le mécanisme suivant:



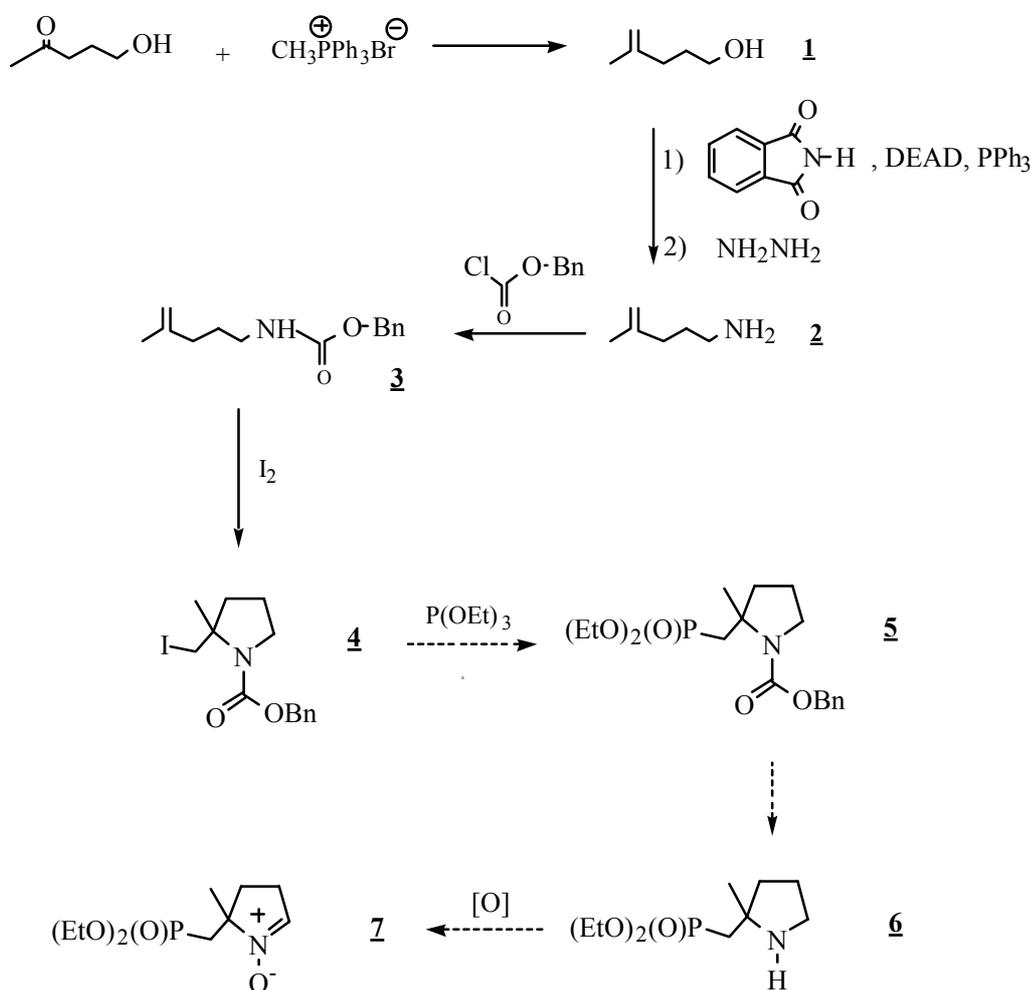
Dans une autre publication de 1990, Shun-Ichi Murahashi utilise l'eau oxygénée en présence d'un autre catalyseur, le tungstate de sodium<sup>27</sup>. Mais dans ces conditions, l'oxydation de la pyrrolidine donne un rendement plus faible (44%).

Fréjaville effectue l'oxydation du (2-méthyl-2-pyrrolidiny) phosphonate de diethyle avec deux équivalents d'acide métachloroperbenzoïque (ac. m-CPB) et obtient la nitronne DEPMPO avec 20% de rendement<sup>28</sup>.



### III - RÉSULTATS ET DISCUSSION

#### III.1 - Schéma général de synthèse

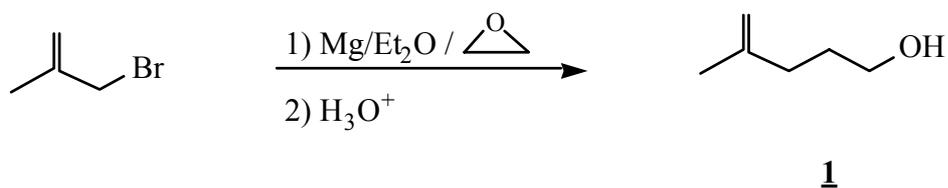


#### III.2 - Synthèse du 4-méthyl pent-4-én-1-ol (**1**)

Deux voies de synthèse de l'alcool éthylénique **1** ont été successivement essayées.

III.2.1 - Addition du magnésien du 3-bromo-2-méthyl propène sur l'oxyde d'éthylène <sup>6</sup>.

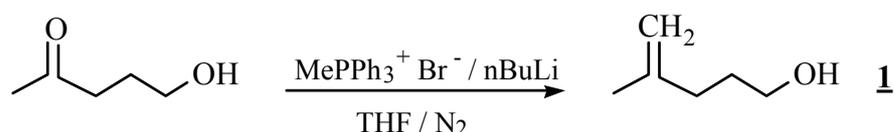
La réaction est la suivante:



Dans la mise en oeuvre de la réaction, nous avons rencontré des problèmes d'homogénéisation lors de l'addition de l'oxyde d'éthylène. L'alcool éthylénique **1** n'a pu être obtenu par cette voie lors de nos essais.

### III.2.2 - Par action d'un réactif de Wittig sur le 3-acétylpropanol.

La synthèse de **1** est décrite par Padwa<sup>9</sup> selon le schéma réactionnel:



Lors des premiers essais, nous avons obtenu des rendements inférieurs à ceux annoncés dans la littérature. En fait, le 3-acétylpropanol commercial doit être distillé juste avant utilisation pour éliminer le dimère qui se forme rapidement lors du stockage.

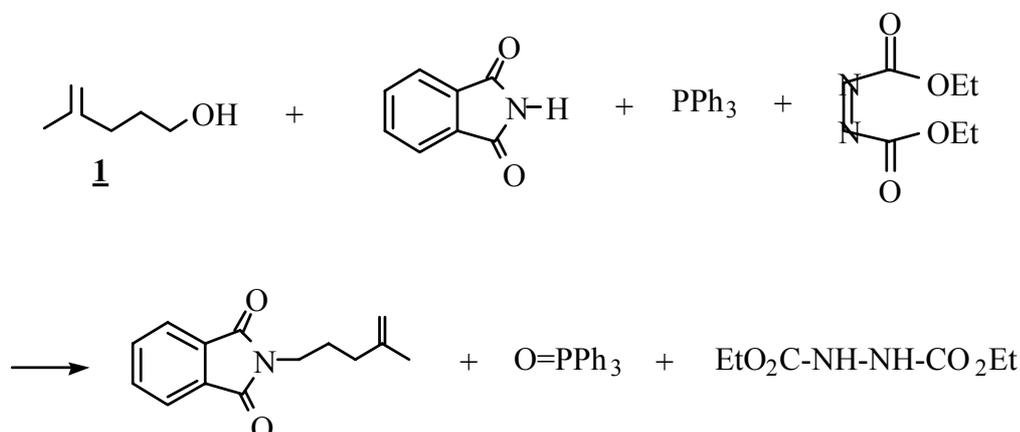
De plus, nous avons recherché les conditions optimales pour la purification de **1** par distillation du produit brut. En effet, lors de la distillation, le produit polymérise facilement. Nous avons donc purifié **1** par distillation moléculaire au four à boules (60 ° C, 2 mmHg). Dans ces conditions, **1** a pu être obtenu avec un rendement de 52 %, en accord avec ceux annoncés dans la littérature.

### III.3 - Synthèse de la 4-méthylpent-4-én-1-amine (**2**)

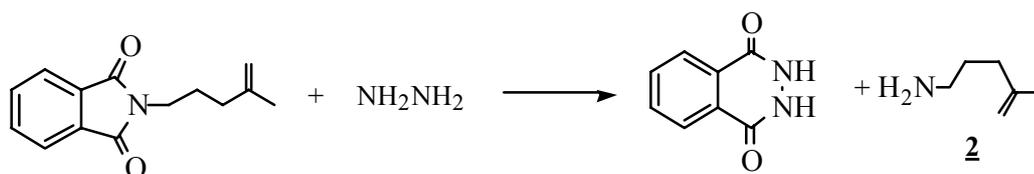
Anastasiou mentionne Hegedus<sup>10</sup> qui utilise une modification de la procédure de Mitsunobu.

La synthèse se fait en deux étapes:

- Préparation d'un groupement libérable



• Hydrazynolyse

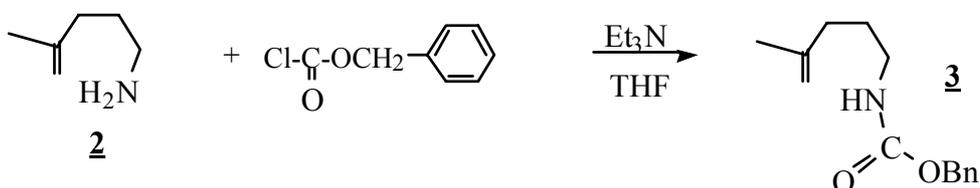


Nous avons obtenu l'amine **2** avec un rendement de 38 %. Malgré ce rendement assez faible, nous n'avons pas observé la formation de produits secondaires en proportion appréciable.

La CCM analytique révélant la présence de **2** dans la phase aqueuse de traitement, nous avons essayé d'améliorer l'extraction de l'amine en procédant à chaud et en continu (éther diéthylique). Cependant, ceci ne nous a pas permis d'augmenter le rendement de façon significative.

### III.4 - Protection du 4-méthylpent-4-én-1-amine (**2**)

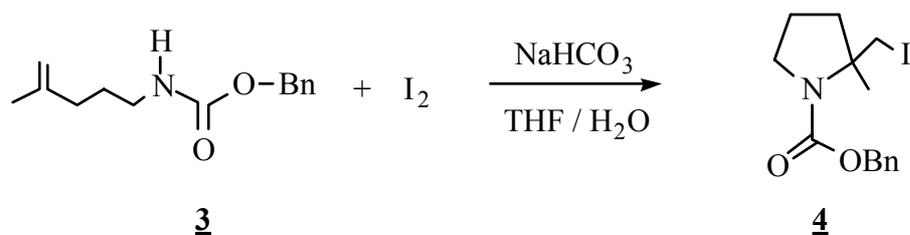
Nous avons choisi comme groupement protecteur le carbamate de benzyle. Le chloroformate de benzyle commercial contenant du chlorure de benzyle, il est nécessaire de distiller le réactif avant l'emploi.



Le carbamate de benzyle de la 4-méthyl-4-penténamine est obtenu avec un rendement de 87 %.

### III.5 - Synthèse de la N-(2-iodométhyl-2-méthyl tétraméthylène) carbamate de benzyle (**4**)

La cyclisation induite par l'iode permet d'accéder directement au composé **4**. Les conditions que nous avons utilisées sont celles décrites par Tamaru<sup>24</sup>.

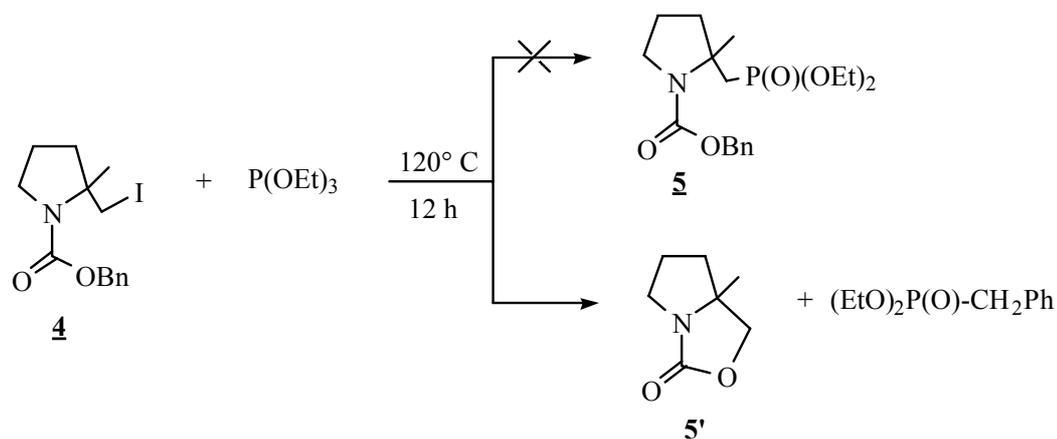


La réaction s'effectue avec un rendement en produit brut de 70 %.

Les conditions de purification de **4** ont été déterminées par CCM préparative (éther de pétrole / acétone 7 / 3).

### III.6 - Réaction d'Arbuzov

Nous avons envisagé d'introduire le groupement diéthoxyphosphoryle dans les conditions suivantes :



D'après les analyses RMN <sup>1</sup>H et <sup>31</sup>P, le produit phosphoré majoritairement formé ( $\delta$  25.4 ppm) est le benzylphosphonate diéthylique.

La formation de ce phosphonate peut s'expliquer par une cyclisation intramoléculaire de **4** pour conduire à une oxazolidone bicyclique **5'**. Cette cyclisation s'accompagne de la libération d'iodure de benzyle qui réagit avec le triéthyl phosphite.

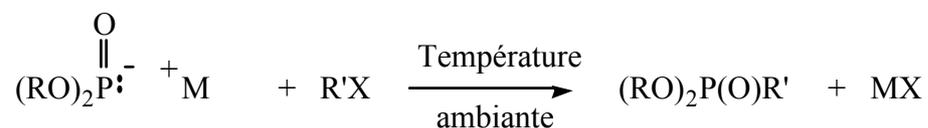
## IV - CONCLUSION et PERSPECTIVES

Notre unique tentative de phosphorylation de **4** par une réaction d'Arbuzov n'a pas conduit au produit souhaité.

Pour déterminer si l'introduction du groupement diéthylphosphoryle sur le carbamate **4** peut être réalisée dans les conditions d'Arbuzov, il faudra donc

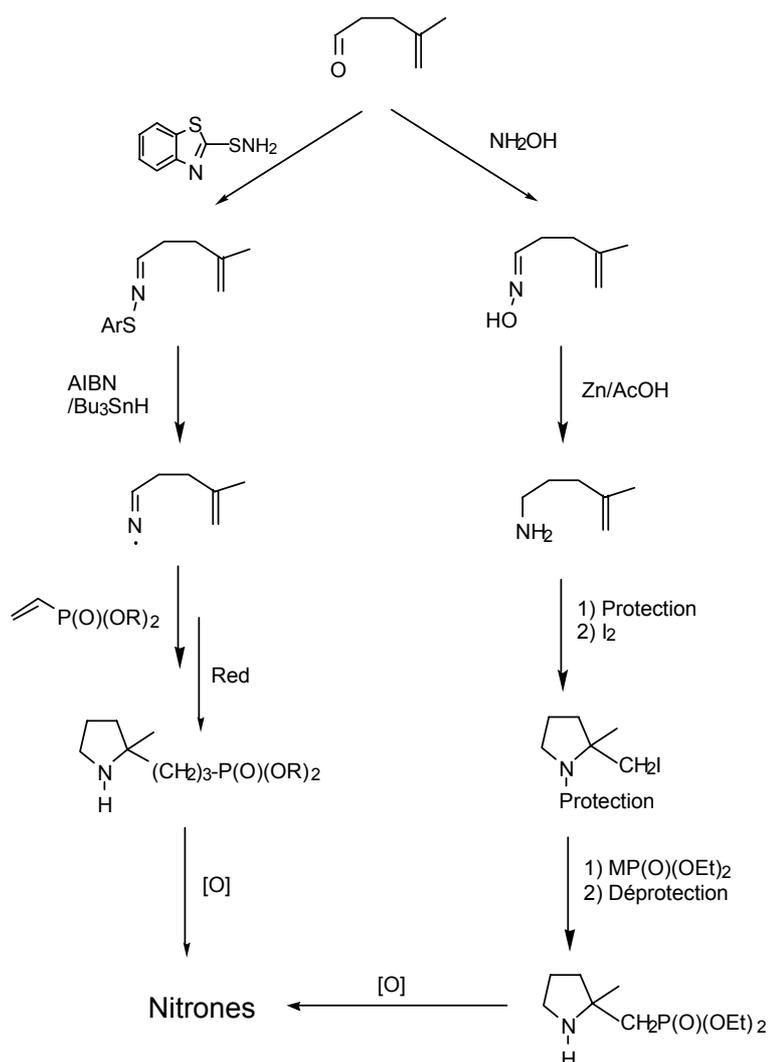
préciser la stabilité thermique du substrat **4** pour déterminer la température maximale de travail.

Par ailleurs, il est envisageable de remplacer la procédure d'Arbuzov par une procédure de Michaelis-Becker qui nécessite des conditions de température plus douces:



Enfin, on peut envisager l'emploi d'autres groupements protecteurs de la fonction amine: tosylate, N-alkoxy amine, N-silylamine ...

D'autres stratégies de synthèse de **7** (ou **C**) et de composés du même type sont également envisageables, soit à partir de la 2-méthyl-1-pyrroline N-oxyle, comme mentionné au chapitre II, soit selon le schéma suivant:



### Perspectives:

Dans le cadre de la recherche de nouveaux pièges à radicaux libres, l'étude de la DEPMPO, mise au point au laboratoire, a montré que cette nitroène était plus performante que la DMPO, généralement utilisée, vis à vis de la stabilité des adduits formés avec les radicaux hydroxyle et superoxyde. La nature de l'influence du phosphore en particulier lors de piégeages *in vivo*, devra être poursuivie en étudiant les propriétés d'autres nitroènes phosphorylées telles que



**V - BIBLIOGRAPHIE**

- (1) Anderson Evans, C. *Aldrichima Acta* **1979**, *12*, 23-29.
- (2) Brandmann, H. A.; Conley, R. T. *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 2236-2238.
- (3) Murahashi, S.-I.; Shiota, T. *Tetrahedron Letters* **1987**, *28*, 2383-2386.
- (4) Murray, R. W.; Singh, M. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 4677-4680.
- (5) Zajac, W. W.; Walters, T. R.; Darcy, M. G. *J. Org. chem.* **1988**, *53*, 5856-5860.
- (6) Spéziale, V.; Mlle Amat, M.; Lattes, A. *J. Heterocyclic Chem.* **1975**, *13*, 349-355.
- (7) Zhou, J.; Lu, G.; Huang, X.; Wu, S. *Synthetic Communications* **1991**, *21*, 435-441.
- (8) Mazzocchi, P. H.; Wilson, P.; Khachik, F.; Klinger, L.; Minamikawa, S. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 2981-2989.
- (9) Padwa, A.; Kulkarni, Y. S.; Zhang, Z. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4144-4153.
- (10) Hegedus, L. S.; McKearin, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 2444-2449.
- (11) Mitsunobu, O.; Wada, M.; Sano, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 679-680.
- (12) Greene, T. W. *Protective groups in organic synthesis*; Wiley Interscience, Ed. Wiley & Sons: New-York, **1981**.
- (13) Harding, K. E.; Burks, S. R. *J. Org. Chem* **1981**, *46*, 3920-3922.
- (14) Natsumé, M.; Muratake, H. *Tetrahedron Letters* **1979**, *36*, 3477-3480.
- (15) Harding, K. E.; Burks, S. R. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 40-44.
- (16) Haskell, B. E.; Bowlus, S. B. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 159-160.
- (17) Vasella, A.; Voeffray, R. *Helvetica Chimica Acta* **1982**, *65*, 1956, 1957, 1963.
- (18) Petillo, E. W.; Spitzmiller, R. *Tetrahedron Letters* **1979**, *51*, 4929-4930.
- (19) Jagodic, K. *Chem. Ber.* **1960**, 2308-2313.
- (20) Hegedus, L. S. *Comprehensive Organic Synthesis* **1991**, *4*, 551-569.
- (21) Harding, K. E.; Tiner, T. H. In *Comprehensive Organic Synthesis*; P. Press, Ed.; **1991**; Vol. 4 (Additions to and substitutions at C-C  $\pi$  bonds); pp 363-421.
- (22) Williams, D. R.; Osterhout, M. H.; McGill, J. M. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 1327-1330.
- (23) Takano, S.; Iwabuchi, Y.; Ogasawara, K. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1988**, 1527-1528.

- (24) Tamaru, Y.; Kawamura, S.-i.; Bando, T.; Tanaka, K.; Hojo, M.; Yoshida, Z.-i. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 5491-5501.
- (25) Bhattacharya, A. K.; Thyagarajan, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *81*, 415-430.
- (26) Engel, R. *Synthesis of carbon-phosphorus bonds*; CRC Press, Inc: **1988**.
- (27) Murahashi, S.-I.; Mitsui, H.; Shiota, T.; Tsuda, T.; Watanabe, S. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 1736-1744.
- (28) Fréjaville, C.; Karoui, H.; Le Moigne, F.; Culcasi, M.; Pietri, S.; Tordo, P. *Brevet Français* **1993**, N° PV 9308906, 20 juillet.

## VI - PARTIE EXPÉRIMENTALE

### Généralités:

Les spectres RMN ont été effectués sur les appareils suivants: BRUCKER AC 100 ( $^1\text{H}$  100 MHz) et BRUCKER AC 200 ( $^1\text{H}$  200 MHz). Les déplacements chimiques sont donnés en ppm, par rapport au tétraméthylsilane. Les spectres infrarouges ont été réalisés sur MATTSON 1000 series FTIR. Les solvants utilisés sont de type Puran de chez SDS.

### Synthèse du 4-méthyl pent-4-èn-1-ol (1)

Dans un tricol de 500 ml, on met le bromure de méthyl triphényl phosphine (41.09 g; 0.115 mol). On purge à l'azote, puis on ajoute 250 ml de THF, distillé avant usage sur le radical anion de la benzophénone. On additionne en 10 mn 50 ml de n-Butyl lithium 2.5 M dans l'hexane (0.125 mol). L'addition est exothermique. On ajoute ensuite 50 ml de THF, puis le 3-acétyl propanol (9.66 g; 0.095 mol) distillé avant usage est additionné en 3 mn à température ambiante. On laisse sous agitation pendant 4 h et on évapore le solvant sous pression réduite. On reprend ensuite avec 200 ml d'eau et on extrait la phase aqueuse par 4\*100 ml d'éther diéthylique. Après séchage sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , on filtre sur fritté et on évapore le solvant sous pression réduite. Le produit brut contient de l'oxyde de triphényl phosphine. On distille au four à boules (60°C, 2 mmHg) pour obtenir 4.98 g (Rendement 52 %) d'un liquide incolore. Les données analytiques sont conformes à celles de la littérature. RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz) ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.74 (s,2H); 3.65 (t,2H, J=7Hz); 2.3 (s,1H); 2.2-1.6 (m,4H) ppm; IR (sans solvant): 3374; 3074; 2940; 2880; 1652; 1445; 1376; 1066; 887; 745  $\text{cm}^{-1}$ ; bp: 65-68 °C / 20 mmHg.

### Synthèse du 4-méthyl pent-4-èn-1-amine (2)

Dans un tricol de 500 ml, on place le phtalimide (5.99 g; 0.041 mol) et la triphenyl phosphine (10.61 g; 0.040 mol). Le montage est purgé à l'azote. On ajoute 200 ml de THF fraîchement distillé sur le radical anion de la benzophénone. Le 4-méthyl pent-4-èn-1-ol (**1**) (4.18 g; 0.042 mol) et l'azocarboxylate de diéthyle (7.03 g; 0.040 mol) sont ajoutés goutte à goutte, simultanément en 4 mn, en refroidissant à l'aide d'un mélange eau/glacé/sel. On laisse pendant 3 jours sous agitation magnétique et à l'abri de la lumière. On évapore le THF à l'évaporateur rotatif et l'huile obtenue est dissoute dans 200 ml de méthanol. On ajoute l'hydrazine (3.9 ml; 0.080 mol) de façon rapide. On laisse à reflux pendant 12 heures, puis on ramène le mélange à température ambiante. On ajoute en 4 mn 6 ml d'acide chlorhydrique concentré et on chauffe à reflux pendant 8 heures. On refroidit, et on

évapore le solvant à l'évaporateur rotatif. Le solide est lavé avec une solution d'acide (200 ml H<sub>2</sub>O pour 8 ml HCl 37 %) par portion de 50 ml. On filtre sur büchner et les cristaux sont rincés avec du chloroforme. Les phases aqueuses sont lavées avec du chloroforme (3 \* 30 ml) et avec de l'éther diéthylique (1 \* 30 ml), puis elles sont refroidies à 0 °C, et basifiées par NaOH et Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Les deux phases résultantes sont extraites par de l'éther diéthylique (5 \* 40 ml). Les phases organiques sont lavées par une solution saturée de NaCl (1 \* 30 ml) et séchées sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre. On filtre et on reconcentre à l'évaporateur rotatif. On obtient une huile brune, qui est distillée au four à boules (40 °C, 20 mmHg). On obtient un liquide incolore, 1.49 g (Rendement 38 %). RMN <sup>1</sup>H (100 MHz) (CDCl<sub>3</sub>) :δ 4.70 (s,2H); 2.69 (t,2H); 2.08 (t,2H); 1.75 (s,3H) ppm; 1.63 (m,2H); IR (sans solvant): 3380; 3300; 3074; 2934; 2857; 1650; 1447; 1375; 888 cm<sup>-1</sup>. Ces données sont conformes à celles publiées dans la littérature.

### **Synthèse du N-(4-méthylpent-4-ényl) carbamate de benzyle (3)**

Dans un bicol de 100 ml, on place la 4-méthyl pent-4-èn-1-amine (**2**) (1.93 g; 19.6 mmol) et la triéthylamine (6.02 g; 59.5 mmol) dans 30 ml de THF anhydre. On ajoute le chloroformate de benzyle fraîchement distillé (4.59 g; 26.9 mmol). La réaction est exothermique. On laisse sous agitation magnétique pendant 19 heures, puis on évapore le THF et le produit pâteux ainsi obtenu est dissous dans 30 ml d'éther. On lave successivement avec de l'eau (2 \* 25 ml), une solution acide pH = 1 (2 \* 25 ml), une solution basique pH = 13 (2 \* 10 ml) et enfin 10 ml d'eau. On sèche sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. On filtre et on évapore le solvant à l'évaporateur rotatif. Le chlorure de benzyle résiduel est éliminé par évaporation à la pompe (4.10<sup>-3</sup> mmHg, 3 h, température ambiante). On obtient alors 4 g (Rendement: 87 %) de **3**. RMN <sup>1</sup>H (100 MHz) (CDCl<sub>3</sub>) :δ 7.35 (s,5H); 5.09 (t,2H); 2.08 (s,2H); 4.70 (s,2H); 3.18 (q,2H); 2.01 (m,2H); 1.70 (s,3H); 1.60 (m,2H) ppm; IR (sans solvant): 3419; 3330; 3068; 3032; 2937; 1702; 1648; 1530; 1455; 1257; 1135; 1040; 889 cm<sup>-1</sup>.

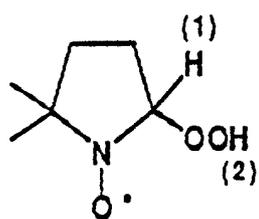
### **Cyclisation du N-(4-méthyl pent-4-ényl) carbamate de benzyle, obtention du N-(2-iodométhyl-2-méthyl tétraméthylène) carbamate de benzyle (4)**

Dans un bicol de 100 ml, on met le carbamate (**3**) (1.06 g; 4.54 mmol) avec NaHCO<sub>3</sub> (0.59 g; 7.00 mmol) dans un mélange Et<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O (23 ml/10 ml). On ajoute l'iode (1.73 g; 6.80 mmol). On protège de la lumière et on laisse sous agitation pendant 48 heures. L'excès d'iode est enlevé par un lavage avec une solution aqueuse de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>. On sépare l'éther, et la phase aqueuse est extraite par de

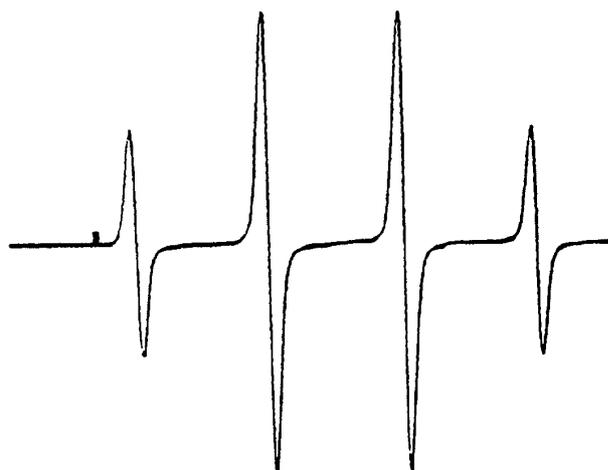
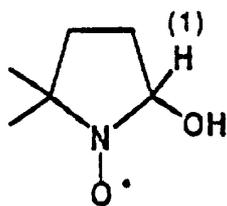
l'acétate d'éthyle (3 \* 30 ml). Les phases organiques sont réunies et lavées par une solution saturée en NaCl et NaHCO<sub>3</sub> (2 \* 10 ml). On sèche sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre puis on filtre et le solvant est évaporé sous pression réduite. On obtient 1.15 g (Rendement 70 %) de produit brut. Pour caractérisation, le produit est purifié par chromatographie préparative sur plaque (éluant Ether de pétrole/Acétone 7/3). RMN <sup>1</sup>H (200 MHz) (CDCl<sub>3</sub>) : $\delta$  7.36 (m,5H,C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 5.15 (d,1H,J=12.01 Hz,CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>Ph); 5.06 (d,1H,J=12.00 Hz,CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>Ph); 4.04 (d,1H,J=9.84 Hz,ICH<sub>a</sub>H<sub>x</sub>); 3.55 (d,1H,J=9.78 Hz,ICH<sub>a</sub>H<sub>x</sub>), 3.45 (m,2H,C(5)H<sub>2</sub>); 1.80 (m,4H,C(3)H<sub>2</sub> et C(4)H<sub>2</sub>); 1.56 (s,3H,CH<sub>3</sub>) ppm.

## ANNEXES

## ANNEXE 1



$$\begin{aligned}
 A_N &= 14.3 \text{ G} \\
 A_{H_1} &= 11.7 \text{ G} \\
 A_{H_2} &= 1.25 \text{ G}
 \end{aligned}$$

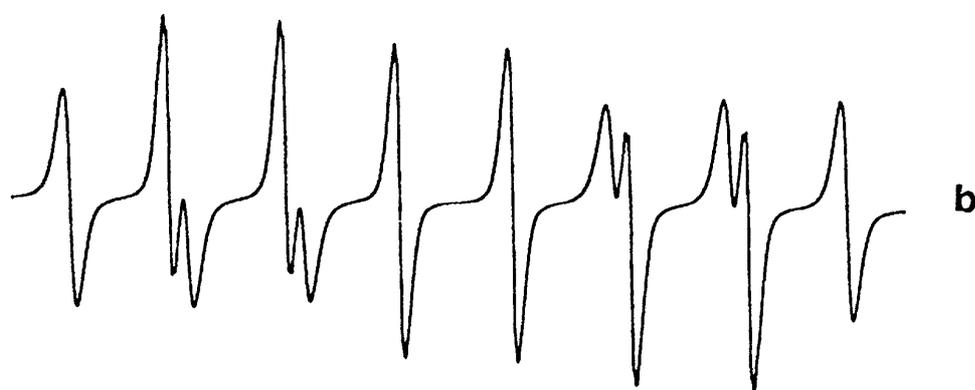
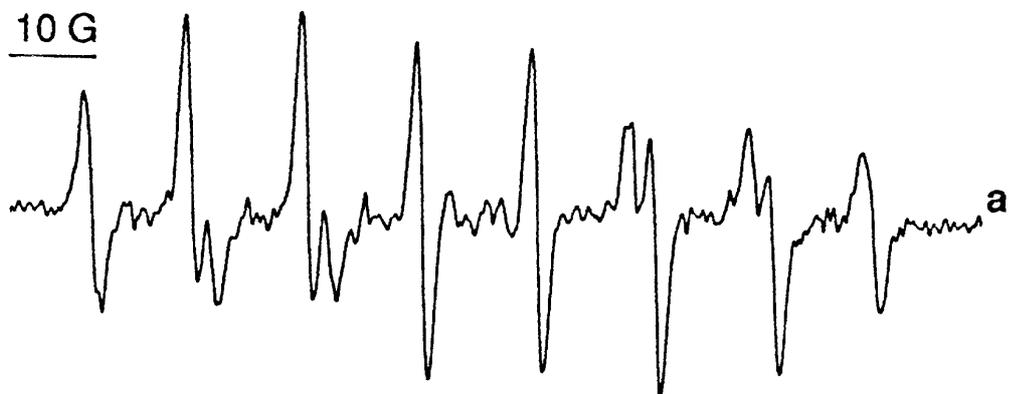


$$\begin{aligned}
 A_N &= 14.87 \text{ G} \\
 A_{H_1} &= 14.81 \text{ G}
 \end{aligned}$$

Piégeage des radicaux hydroxyle et superoxyde  
par la DMPO

## ANNEXE 2

Piégeage des radicaux hydroxyle et superoxyde par la DEPMPO

DEPMPO-OO<sup>-</sup>(H)

a: Spectre expérimental

b: Spectre simulé

15 Gauss

DEPMPO-OH

## RÉSUMÉ

Dans le cadre de la recherche de nouveaux pièges à radicaux libres, le laboratoire SREP a développé une nitrone pyrrolidinique  $\alpha$ -phosphorylée, la DEPMPO, dont les performances dans le piégeage des radicaux oxygénés (hydroxyle, superoxyde) s'avèrent supérieures à celles de la DMPO couramment utilisée.

Dans le but de mieux cerner l'influence du groupement phosphoryle sur ces réactions de piégeage et sur la durée de vie des adduits, nous avons entrepris de synthétiser le (5-méthyl-1-oxyde- $\Delta$ -1-pyrrolin-5-yl) méthyl phosphonate diéthylique, molécule dans laquelle le groupement phosphoryle est éloigné du site de piégeage. Nous avons réalisé la synthèse d'un précurseur halogéné à partir duquel trois étapes devraient nous conduire au produit souhaité. Au niveau synthétique, nos premiers essais montrent qu'il reste essentiellement à mettre au point l'étape de phosphorylation de ce précurseur halogéné. Lorsque nous aurons réalisé la synthèse de notre cible, il faudra tester en RPE les propriétés de piégeage du (5-méthyl-1-oxyde- $\Delta$ -1-pyrrolin-5-yl) méthyl phosphonate diéthylique.

Mots Clés: Nitrone / Nitroxyde / Radicaux libres / Piégeage / Phosphonate / RPE